

· 研究简报 ·

甲醇老化处理对花生种子的胚根细胞超微结构的影响*

傅家瑞 李卓杰 蔡东燕**

(中山大学生物学系)

徐是雄

(香港大学植物学系)

七十年代以来,许多研究者应用人工加速老化法对种子活力进行测定^[4]。由于人工加速老化法需时较长,受温度、湿度影响较大,且易发霉,因此Masgrave等便提出用甲醇老化法检验种子活力,并认为该法对大豆、豌豆种子活力的检验效果良好^[5]。他们还讨论了甲醇对大豆种子的伤害作用^[7]。

我们曾对贮藏中发生劣变的花生胚根尖细胞超微结构进行过研究^[1],本试验系探讨甲醇老化法引起劣变的花生根尖细胞超微结构的变化,试图找出不同老化法引起劣变的异同。

1. 材料与方 法

供试花生种子为粤油551品系。选取活力高的新鲜花生种子为对照材料(正常种子),将这些种子分别浸泡于0、10、20、30、40、50%甲醇中进行老化处理2小时,取出冲洗10分钟,然后放入置有湿滤纸的培养皿内萌发(温度28—30℃)3天后,测定发芽率、胚根及下胚轴长度,并计算出活力指数(发芽率×胚根及下胚轴长度)。同时应用DDS-11A型电导仪测定种子的外渗量,比较对照与甲醇老化处理的胚根细胞膜透性变化趋势。

供作电镜观察的材料均系萌发24小时的胚根。将切下的胚根尖用4%戊二醛(0.2M磷酸缓冲液中)作前固定,按常规制成超薄切片,以柠檬酸钠及硝酸铅双重染色,在HU12A型电子显微镜下观察。

2. 试验结果

(1)甲醇老化法的劣变效应 经50%甲醇老化处理的种子全部不能萌发。用10-20%甲醇处理的种子仍具有较高的发芽率与活力指数。30%甲醇是花生种子劣变的临界浓度,老化后的种子发芽率与活力指数的变化幅度很大,并且出现显著的下降趋势(图1)。

经30%甲醇老化的种子外渗量显著增多,说明细胞膜系统受到损伤,透性加大,种子劣变程度严重(表1)。

本文1985年4月收到

*中国科学院科学基金资助课题

** 宾金华、郑思春参加部分实验工作

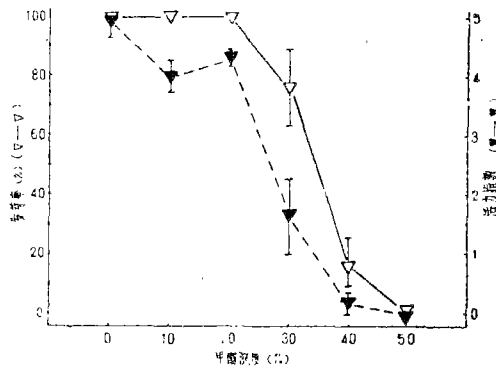


图1 不同浓度甲醇对花生种子老化效果

表1 甲醇对花生种子细胞透性的影响 (重复7次平均值)

| 组别 | 对照 | 30%甲醇老化处理2小时 |
|----------------------------|-------|--------------|
| 电导率($\mu\Omega^{-1}/cm$) | 36.40 | 239.95 |
| *离子渗漏率(%) | 100 | 659.20 |

$$*离子渗漏率(\%) = \frac{\text{甲醇处理种子的电导率}}{\text{正常种子的电导率}} \times 100$$

(2) 甲醇老化种子的超微结构变化 经50%甲醇老化处理种子的胚根细胞, 质膜强烈向内收缩, 远离细胞壁, 在质壁分离区域内, 沉积着很多嗜碘物质。脂肪圆球体成行排列在原生质体外侧, 与界面交错。在细胞内难以找到完整的蛋白体。线粒体、核糖体等细胞器结构模糊, 表明已受损伤(图版I—1、2、3)。

用20%甲醇老化处理的种子, 胚根细胞未发现质壁分离现象, 核膜尚能观察到, 但线粒体结构已受到损伤, 蛋白体内的蛋白质也似乎比正常的电子密度高且较多集结在膜层侧。圆球体密集于核附近, 基本上把核包围, 接近核处缺少别的细胞器。此外, 在核仁中仅有粒状结构, 很难分辨出丝状成分(图版II—5、6)。

在正常的胚根细胞中, 未发现质壁分离现象, 圆球体均匀分布在细胞质中, 胞质内蛋白体相当丰富, 而圆球体则埋砌在蛋白体周围, 构成工整的图式(图版I—4)。在核周围邻近有多种细胞器, 而甚少与圆球体直接接触。核仁不但含粒状成分, 也含丝状成分(图版II—7)。在高倍电镜下, 可以观察到结构清晰的线粒体膜与嵴, 以及均匀分布于胞质中的核糖体(图版II—8)。

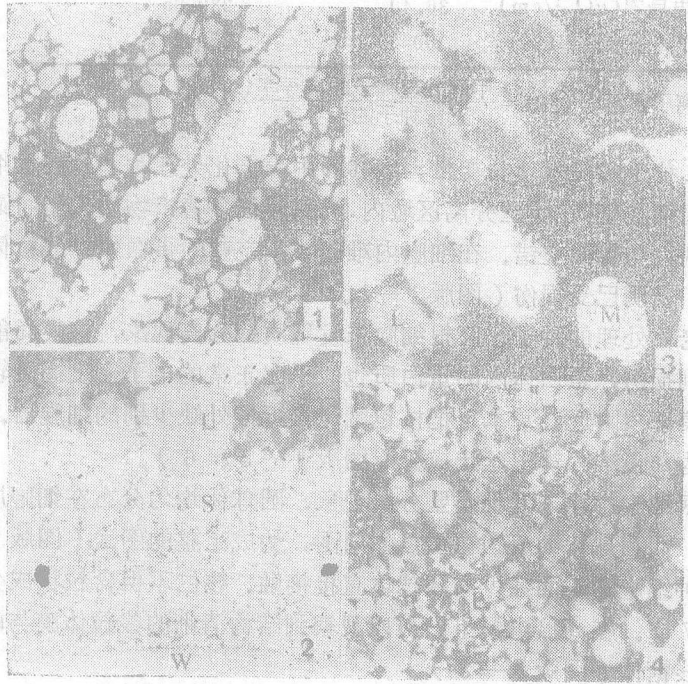
3. 讨 论

在不同浓度甲醇处理下, 花生种子产生的劣变程度不同。经10—20%甲醇老化处理的种子, 对膜的损伤较轻, 在萌发时仍具修复能力, 因此, 发芽率仍保持100%, 活力指数下降不多。可是经30%甲醇老化处理后, 发芽率下降至76%, 活力指数的下降更为显著。50%甲醇处理后这两个数值均为零。

为了取得明显劣变的种子, 用45℃及饱和湿度进行人工加速老化处理, 需要通过4—7天的时间, 即使轻度劣变种子也需用2—4天的处理时间^[1]。如果采用甲醇老法则只须用不同浓度的甲醇浸泡2小时, 便可以获得劣变程度不同的种子。

人工加速老化处理的花生种子，胚根细胞的结构破坏，细胞器难以辨认，而圆球体溶合成团⁽¹⁾。50%甲醇老化处理的花生种子严重劣变，其胚根细胞质壁分离程度较人工加速老化处理严重，而圆球体却未溶合且能独立地分布在细胞内。可见甲醇老化与人工加速老化处理对胚根细胞结构的损伤方式有所区别。此外，产生严重的质膜损伤可能和蛋白体损伤有关。一般认为，种子的蛋白体内贮有大量水解酶，如果蛋白体受到损伤，水解酶将会释出而侵蚀细胞。

虽然20%甲醇处理的种子与正常种子的发芽率无甚差别，可是前者已发生一定程度的劣变，既可以从活力指数下降觉察到，也可以从结构上观察到。无疑，活力指数较发芽率更能反映种子轻微的劣变。经过20%甲醇老化处理的不同活力种子，从它们的劣变程度的变化可以观察到它们原来活力的水平高低。Delouche和Baskin利用人工加速老化法来检验种子活力和耐藏力的大小⁽⁵⁾。我们认为应用10%或20%甲醇对花生种子进行老化处理，同样可以检测出种子活力和耐藏力的大小，从而可以根据种子的素质决定采取相应的措施。

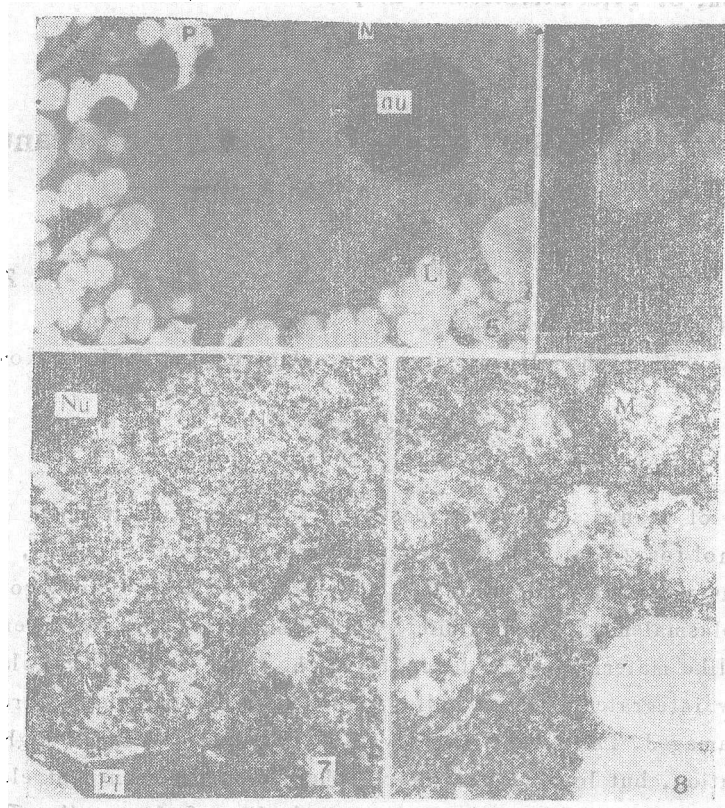


图版 I

试验用的胚根细胞取自萌发24小时的花生种子

L: 圆球体(脂肪体)

1. 经50%甲醇处理的胚根细胞。图示质膜和细胞壁严重分离现象，胞质内无完整的蛋白体存在。×10000
2. 经50%甲醇处理的胚根细胞。图示质壁分离后形成广阔空间(S)，充填着大量的嗜铁物质。×24000
3. 经50%甲醇处理的胚根细胞。图示线粒体损伤。×30000
4. 正常的胚根细胞。图示胞质内的蛋白体(P)很完整，圆球体和蛋白体交错排列均匀。×10000



图版 II

- 试验用的胚根细胞取自萌发24小时的花生种子 L: 圆球体(脂肪体)
5. 经20%甲醇处理的胚根细胞。图示蛋白体(P)内电子密度大的物质集结现象。核膜存在, 但核仁(nu)只具粒状结构。核周围排列很多圆球体, 但却缺少其他细胞器。×10000
6. 经20%甲醇处理的胚根细胞。图示线粒体结构模糊 ×24000
7. 正常的胚根细胞。图示双层核膜, 核仁(Nu)具粒状成分及丝状成分。核(N)周围有线粒体(M)、质体(PI)等细胞器存在。×40000
8. 正常的胚根细胞。图示结构良好的线粒体(M)及核糖体(R)。×40000

参 考 文 献

- [1] 傅家瑞等, 植物生理学报, 9(1983), 1, 93—101.
- [2] Byrd, H. W., Delouche, J. C., *Proc. Assoc. Official Seed Anal.*, 61(1971), 41—57.
- [3] Delouche, J. C., Baskin, C. C., *Seed Sci. & Technol.*, 1(1973), 427—452.
- [4] Justice, O. L., Bass, L. N., *Principles of Seed Storage*, pp. 172—174, USDA Agric Handb. no. 506, Washington, 1978.
- [5] Musgrave, M. E., Priestley, D. A., Leopold, A. C., *Crop Sci.*, 20 (1980), 626—630.

[6] Paterson, S. T., et al., *Biochim. Biophys. Acta*, 266(1972), 597—602.

[7] Priestley, D.A., Leopold, A.C., *Ann. Bot.*, 45(1980), 39—45.

Ultrastructural Studies on Radicle Cells of Peanut Seeds Aged by Methanol

Fu Jiarui et al.

(Department of Biology,
Zhongshan University)

Xu Shi Ziong (S.-Y. ZEE)

(Botany Department,
University of Hong Kong)

Abstract

The vigor of peanut seeds is decreased by treating with various concentration of methanol for 2 hrs. The higher concentration of methanol is, the lower the vigor. When seeds are aged with 50% methanol, they lose their vigor and viability. The plasmalemma of the radicle cells contracted inward severely and a lot of osmic-like materials were deposited in the space formed by plasmolysis. There are few integrated protein bodies in the cells. The ultrastructure of mitochondria is damaged. The seeds treated with 20% methanol has still high percentage of germination, but lower vigor index. There are coalescence of electric-dense materials which might be inside the protein bodies of these cells. The nucleus is surrounded by many spherosomes and few other organelles. The mitochondria are more or less disintegrated. In the radicle cells of the normal seeds, the organelles including mitochondria, ribosomes and nucleus are well developed, and the nucleolus included granular and fibrous materials. Using the method of electroconductivity, we could observe that the leakage from seeds aged with methanol increase greatly. It is suggested that the membrane was damaged.